

**KARAKTERISTIK BAKTERI PATOGEN PENYEBAB PENYAKIT  
BENGKAK MAHKOTA PADA TANAMAN MAWAR**

Oleh:

**FEBRIANA KUSUMA WARDANI**

**0710460037- 46**

**UNIVERSITAS BRAWIJAYA**



**UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
FAKULTAS PERTANIAN  
JURUSAN HAMA DAN PENYAKIT TUMBUHAN  
MALANG  
2012**

**KARAKTERISTIK BAKTERI PATOGEN PENYEBAB PENYAKIT  
BENGKAK MAHKOTA PADA TANAMAN MAWAR**

Oleh :

**FEBRIANA KUSUMA WARDANI**

**0710460037- 46**

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



**SKRIPSI**

**Diajukan sebagai satu syarat untuk memperoleh Gelar Sarjana Pertanian**

**Strata Satu (S-1)**

**UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

**FAKULTAS PERTANIAN**

**JURUSAN HAMA DAN PENYAKIT TUMBUHAN**

**MALANG**

**2012**

**LEMBAR PERSETUJUAN**

**Judul Skripsi** : Karakteristik Bakteri Patogen Penyebab Penyakit Bengkak Mahkota pada Tanaman Mawar

**Nama Mahasiswa** : Febriana Kusuma Wardani

**NIM** : 0710460037- 46

**Jurusan** : Hama dan Penyakit Tumbuhan

Disetujui oleh:

**Pembimbing Pertama,**

**Pembimbing Kedua,**

**Prof. Dr. Ir. Abdul Latief Abadi, MS.**  
NIP. 19550821 198002 1 002

**Luqman Qurata Aini, SP, MSi, Ph.D.**  
NIP. 19720919 199802 1 001

Mengetahui,

**Ketua**  
**Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan**  
**Fakultas Pertanian**  
**Universitas Brawijaya**

**Dr. Ir. Bambang Tri Rahardjo, SU.**  
NIP. 19550403 198303 1 003

**LEMBAR PENGESAHAN**

Mengesahkan,

**MAJELIS PENGUJI**

**Penguji I,**

**Penguji II,**

**Dr. Ir. Sri Karindah, MS.**  
**NIP. 19520517 197903 2 001**

**Ir. H. Abdul Cholil**  
**NIP.19510807 197903 1 002**

**Penguji III,**

**Penguji IV,**

**Prof. Dr. Ir. Abdul Latief Abadi, MS.**  
**NIP. 19550821 198002 1 002**

**Luqman Qurata Aini, SP, MSi, Ph.D.**  
**NIP. 19720919 199802 1 001**

**Tanggal Lulus :**

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



*Skripsi ini kupersembahkan untuk:*

*Ayahku Madiono dan Ibuku Sumiarsih tercinta,  
Kakakku (Dony Agus Susanto, S.E.) serta  
Kekasihku (Fredy Yusak Singgih, S.E.)*

## PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan disuatu Perguruan Tinggi, dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Malang, April 2012

Febriana Kusuma Wardani

## RINGKASAN

**Febriana Kusuma .W. 0710460037-46. Karakteristik Bakteri Patogen Penyebab Penyakit Bengkak Mahkota pada Tanaman Mawar. Di bawah bimbingan Prof. Dr. Ir. Abdul Latief Abadi, MS dan Luqman Qurata Aini, SP, MSi, Ph.D.**

---

Bunga mawar merupakan tanaman yang banyak ditanam di kota Batu Malang sebagai sentra tanaman hias terbesar di Jawa Timur. Diketahui saat ini hampir 80% kebun tanaman mawar yang berada di kota Batu terserang penyakit yang oleh petani setempat disebut penyakit "penthol". Penyakit tersebut memiliki ciri-ciri berupa bengkak (*gall*) atau seperti tumor pada bagian pangkal batang dan bekas pangkasan. Dalam satu tanaman bisa terdiri dari satu sampai lebih dari 10 *gall*. Penyakit ini kemungkinan disebabkan oleh bakteri patogen genus *Agrobacterium*. Terdapat 4 jenis genus *Agrobacterium* yang dapat menyebabkan gejala tumor pada tanaman yaitu *Agrobacterium vitis*, *Agrobacterium rhizogenes*, *Agrobacterium rubi*, dan *Agrobacterium tumefaciens*. Penyakit tumor ini diketahui mempunyai kisaran inang yang cukup luas seperti buah apel, pir, anggur dan sayur-sayuran. Oleh karena itu karakterisasi patogen penyebab tumor pada tanaman mawar tersebut perlu dilakukan.

Penelitian dilakukan di laboratorium Bakteriologi Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya Malang pada bulan Februari 2011 sampai November 2011. Bakteri patogen diisolasi dari batang tanaman mawar yang terserang penyakit tumor batang yang dicirikan dengan gejala tumor pada batang tanaman mawar. Identifikasi bakteri patogen dilakukan menurut Schaad (1988) untuk tingkat genus adalah uji Gram, uji oksidatif-fermentatif, uji pada media King'S B, uji media NA dengan koloni tidak berwarna kuning, dan uji pertumbuhan di media D1M. Identifikasi patogen untuk tingkat spesies adalah uji pertumbuhan pada 2% NaCl dan uji pertumbuhan pada suhu 35°C. Uji patogenesitas juga dilakukan untuk mengetahui apakah isolat-isolat yang diperoleh merupakan patogen pada tanaman mawar atau bukan dengan melihat gejala penyakit yang terjadi setelah tanaman diinokulasi. Uji antibiotik untuk mengetahui efektifitas senyawa antibiotik streptomycin sulfat dalam penghambatan bakteri penyebab penyakit tersebut.

Hasil isolasi didapatkan delapan biakan murni diberi nama At 1, At 2, At 3, At 4, At 5, At 6, At 7, At 8. Hasil identifikasi menunjukkan bahwa isolat At 3 dan At 4 memiliki karakteristik Gram negatif, bersifat oksidatif, tidak berpendar pada uji flourescens, koloni berwarna putih pada media NA, dapat tumbuh pada media D1M, dan dapat tumbuh pada NaCl 2% dan suhu 35°C maka diduga kedua isolat tersebut termasuk dalam spesies *Agrobacterium tumefaciens* bukan termasuk dalam spesies *Agrobacterium vitis* dan *Agrobacterium rhizogenes*. Hasil uji patogenesitas yang telah dilakukan pada tanaman mawar menunjukkan bahwa isolat At3 dan At4 mampu membentuk tumor pada batang tanaman mawar. Gejala tersebut mulai muncul pada umur 21 hsi. Dosis anjuran yang tertera pada Agrept 20WP yaitu 2,5 gram/liter atau setara dengan konsentrasi 50 ppm streptomycin sulfat maka dengan dosis tersebut bakterisida agrept 20WP belum efektif dalam mengendalikan penyakit ini.

## SUMMARY

**Febriana Kusuma .W. 0710460037-46. Characteristic of Bacteria Pathogens Caused Disease Crown Gall in rose plants. Supervised by Prof. Dr. Ir. Abdul Latief Abadi, MS and Luqman Qurata Aini, SP, MSi, Ph.D.**

---

Roses are plants that are widely planted in Batu Malang which is known as the biggest centre of ornamental plant in East Java. Almost 80% of roses garden plants in Batu city infected with plant disease called "penthol disease" by local farmers. The disease had the characteristics such as a gall or 'tumor' like at the base of the stem and former stem cut. On one plant can have one to 10 galls. The disease is probably caused by bacterial pathogen *Agrobacterium* sp. There are four species of *Agrobacterium* which could produce tumor symptom on plants, i.e: *Agrobacterium vitis*, *Agrobacterium rhizogenes*, *Agrobacterium rubi*, dan *Agrobacterium tumefaciens*. The disease had widely host range such as apples, pears, grapes and vegetables. Therefore the characterization of bacterial pathogen causing tumor symptom on rose plants have to be done.

The research was conducted in the laboratory of bacteriology, Department of Plants Pest and Disease, Faculty of Agriculture, Brawijaya University from February to November 2011. Bacterial pathogens were isolated from tumor symptoms on the stem of rose plants. Identification of the bacterial pathogens according to Schaad (1988) for the study of the genus are Gram test, oxidative-fermentative test, King's B medium test, colony colour on NA medium, and growth on D1M medium. Identification of the pathogen for the species are growth in 2% NaCl and growth at 35°C. Pathogenicity test to see if the isolates obtained is pathogenic on roses plants by observation of the symptoms after plant inoculations. Antibiotic test was done to know the effectiveness of antibiotic streptomycin sulfate to inhibit the disease.

Isolation of bacterial pathogens got eight isolates and named At 1, At 2, At 3, At 4, At 5, At 6, At 7, At 8. The identification showed that isolate At 3 and At 4 have characteristics of negative Gram reaction, oxidative, did not produce fluorescens pigment on King's B, white colony on NA, could growth on D1M agar, NaCl 2% and at 35°C. Thus isolate At 3 and At 4 are suspected to be *Agrobacterium tumefaciens* species, not *Agrobacterium vitis* nor *Agrobacterium rhizogenes* species. Pathogenicity test showed that isolates At 3 and At 4 could induce gall on the stem of rose plants. The symptoms showed at 21 days after inoculation. Dosage recommendations listed for Agrept 20WP is 2.5 grams/litre, it is equal to the concentration of 50 ppm, but this dosage is not yet effective to inhibit the disease.

## KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Alloh SWT yang dengan rahmat dan hidayah Nya telah menuntun penulis hingga dapat menyusun dan menyelesaikan skripsi yang berjudul “Karakteristik Bakteri Patogen Penyebab Penyakit Bengkak Mahkota pada Tanaman Mawar”.

Penyusunan skripsi ini juga tidak lepas dari bantuan berbagai pihak yang telah banyak membantu penulis. Dengan segala kerendahan hati penulis menyampaikan terima kasih kepada:

1. Prof. Dr. Ir. Abdul Latief Abadi, MS. Dan Luqman Qurata Aini, SP, MSi, Ph.D. selaku pembimbing yang telah memberikan waktu serta bimbingannya dalam menyelesaikan skripsi ini.
2. Dr. Ir. Bambang Tri Rahardjo, SU. selaku ketua jurusan HPT Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya.
3. Kedua Orang tua tercinta yang telah memberikan bantuan dorongan baik moril maupun materil dan kakakku Dony Agus S. yang selalu mendukung penulis.
4. Fredy Yusak S. yang selalu meluangkan waktunya untuk berbagi dan mau mengerti untuk selalu memberikan semangat dan saran tanpa henti kepada penulis.
5. Ibu Hj. Ika Purnawati, Mbak Lilis Suryani, dan Laboran Istaniyah Huda yang telah menemani dan bersenda gurau pada saat di laboratorium bakteriologi sehingga menjadikan suasana laboratorium tidak sepi.
6. Teman-teman HPT '07 serta semua pihak atas bantuan, perhatian dan dukungan yang telah diberikan selama penyusunan skripsi.

Penulis berharap semoga hasil dari penelitian ini dapat bermanfaat bagi banyak pihak, dan memberikan sumbangan pemikiran dalam kemajuan ilmu pengetahuan. Amin.

Malang, Februari 2012

Febriana Kusuma Wardani

## RIWAYAT HIDUP

Penulis dilahirkan di Surabaya, pada tanggal 4 Februari 1989 sebagai anak kedua dari 2 bersaudara dari Bapak Madiono dan Ibu Sumiarsih. Kakak penulis bernama Dony Agus Susanto, SE.

Penulis memulai pendidikannya di TK Sahasraya pada tahun 1994 sampai tahun 1995, melanjutkan pendidikan Sekolah Dasar penulis ditempuh di SDN Pepelegi I pada tahun 1995 sampai tahun 2001. Penulis melanjutkan ke SLTPN 1 Sidoarjo pada tahun 2001 sampai tahun 2004. Jenjang selanjutnya di SMU Negeri 21 Surabaya dari tahun 2004 sampai tahun 2007. Pada tahun 2007 penulis terdaftar sebagai mahasiswa Strata 1, Program Studi Ilmu Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya, Malang, melalui jalur SPMB (Seleksi Penerimaan Mahasiswa Baru).

Selama menjadi mahasiswa, penulis aktif organisasi jurusan yaitu di HIMAPTA (Himpunan Mahasiswa Perlindungan Tanaman) pada periode kepengurusan 2008- 2010 sebagai Bendahara. Penulis juga aktif sebagai panitia dalam berbagai kepanitiaan yang diadakan HIMAPTA selama kurun waktu 2008 hingga 2010. Penulis pernah menjadi asisten praktikum mata kuliah Manajemen Hama Penyakit Terpadu, dan Pertanian Berlanjut pada tahun 2011.

## DAFTAR ISI

	Halaman
<b>RINGKASAN</b> .....	<b>i</b>
<b>SUMMARY</b> .....	<b>ii</b>
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	<b>iii</b>
<b>RIWAYAT HIDUP</b> .....	<b>iv</b>
<b>DAFTAR ISI</b> .....	<b>v</b>
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	<b>vi</b>
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	<b>vii</b>
<b>BAB I. PENDAHULUAN</b>	
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Tujuan .....	2
1.3 Hipotesis .....	2
<b>BAB II. TINJAUAN PUSTAKA</b>	
2.1 Morfologi dan Klasifikasi Tanaman Mawar .....	3
2.2 Syarat Pertumbuhan Tanaman Mawar .....	4
2.3 Penyakit Bengkak Mahkota (Crown Gall) .....	5
2.4 Bakteri Patogen Genus <i>Agrobacterium</i> sp .....	5
2.5 Bakteri Penyebab Penyakit Bengkak Mahkota .....	6
2.6 Identifikasi Bakteri Penyebab Penyakit Bengkak Mahkota .....	7
<b>BAB III. METODE PELAKSANAAN</b>	
3.1 Tempat dan Waktu .....	9
3.2 Alat dan Bahan .....	9
3.3 Metode Penelitian .....	9
Persiapan Penelitian	
Pembuatan Media .....	9
Media Nutrient Broth Agar (NA) .....	9
Media Oksidatif-Fermentatif (OF) .....	10
Media Water Agar 3% .....	10
Media King's B .....	10
Media DIM .....	10
Media NB .....	11
Media NB NaCl 2% .....	11

Isolasi Bakteri Patogen .....	11
Pelaksanaan Penelitian	
Identifikasi Bakteri Patogen .....	12
Uji Tahap Genus	
Uji Gram .....	12
Uji Anaerob .....	13
Uji Media King's B .....	13
Uji Pertumbuhan Koloni Kuning pada Media NA .....	13
Uji Pertumbuhan pada Media D1M .....	14
Uji Tahap Spesies	
Uji Pertumbuhan pada 2% NaCl .....	14
Uji Pertumbuhan pada suhu 35°C .....	14
Uji Patogenesitas .....	14
Uji Antibiotik .....	15

#### **BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN**

4.1 Deskripsi Gejala Bengkak Mahkota .....	16
4.2 Isolasi Bakteri dari Tumor pada Pangkal Batang .....	17
4.3 Identifikasi Bakteri Penyebab Bengkak Mahkota .....	18
Morfologi Koloni .....	18
Uji Fisiologi dan Biokimia .....	19
4.4 Uji Patogenesitas .....	24
4.5 Uji Antibiotik .....	24

#### **BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN**

5.1 Kesimpulan .....	27
5.2 Saran .....	27

<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>viii</b>
-----------------------------	-------------

## DAFTAR TABEL

Nomor	Halaman
1. Karakteristik Spesies dari Genus <i>Agrobacterium</i> .....	8
2. Sifat Morfologis dan Fisiologis Masing-masing Isolat Bakteri Penyebab Penyakit Bengkak Mahkota pada Tanaman Mawar .....	22
3. Rerata Garis Tengah (diameter) Daerah Hambatan (cm) Pertumbuhan Bakteri <i>Agrobacterium tumefaciens</i> dalam Media NA dengan Perlakuan Berbagai Konsentrasi Antibiotika .....	25



## DAFTAR GAMBAR

Nomor	Halaman
1. Penyakit Crown Gall pada Tanaman Mawar .....	5
2. Siklus Hidup <i>Agrobacterium tumefaciens</i> .....	7
3. Bagan Identifikasi Genus dari Bakteri Penyebab Penyakit Bengkak Mahkota pada Tanaman .....	7
4. Kebun Mawar yang Berada disalah satu Kota Batu .....	16
5. Gejala Tumor Berwarna Coklat Muda .....	17
6. Gejala Tumor Berwarna Coklat Tua .....	17
7. Koloni Bakteri Uji At 3 pada Media Biakan NA .....	18
8. Koloni Bakteri Uji At 8 pada Media Biakan NA .....	19
9. Warna Dinding Sel Bakteri pada Hasil Uji Pengecatan Gram .....	19
10. Perbedaan warna media pada tabung reaksi yang ditutup dengan media WA dan tidak ditutup pada uji anaerob .....	20
11. Koloni Bakteri Uji tidak Menunjukkan Koloni Berpendar pada Saat Dilihat di Sinar Ultraviolet pada Uji Fluorescen .....	21
12. Koloni Bakteri Uji At 3 Berwarna Putih pada Media Biakan NA pada Uji Warna Koloni Kuning di Media NA .....	21
13. Koloni Bakteri Uji At 3 yang Dapat Tumbuh pada Media Biakan DIM ...	21
14. Koloni Bakteri Uji At 4 pada Media Biakan NB 2%NaCl yang Berubah Warna Menjadi Keruh pada Uji Pertumbuhan 2% NaCl .....	23
15. Koloni Bakteri Uji At 4 pada Media Biakan NB yang Berubah Warna Menjadi Keruh pada Uji Suhu 35°C .....	23
16. Tanaman dari Hasil Uji Patogenesitas .....	24
17. Pengaruh Antibiotika Terhadap Pertumbuhan <i>Agrobacterium</i> <i>tumefaciens</i> .....	25

## BAB I PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Bunga mawar merupakan tanaman yang banyak disukai masyarakat penggemarnya karena warna bunganya yang cantik dengan ragam warna serta pesona harumnya yang menawan. Tanaman ini banyak ditanam di kota Batu Malang yang telah dikenal luas sebagai sentra tanaman hias terbesar di Jawa Timur.

Hasil pengamatan dan wawancara dengan petugas Pengamat Organisme Pengganggu Tanaman (POPT) setempat diketahui saat ini hampir 80% semua kebun tanaman mawar yang berada di kota Batu sedang terserang penyakit yang oleh petani setempat disebut penyakit “penthol”. Penyakit tersebut memiliki ciri-ciri berupa bengkak (*gall*) atau seperti tumor pada bagian pangkal batang dan bekas pangkasan. Dalam satu tanaman bisa terdiri dari satu sampai lebih dari 10 *gall*. Tanaman yang terserang penyakit ini terlihat merana dan kalau jumlah *gall* banyak dapat menyebabkan penurunan produksi bunga. Penyakit ini kemungkinan disebabkan oleh bakteri patogen *Agrobacterium tumefaciens* dan nama penyakitnya adalah *crown gall* atau bengkak mahkota, penyakit ini diketahui mempunyai kisaran inang yang cukup luas (Agrios, 1997) seperti buah apel, pir, anggur dan sayur-sayuran oleh karena itu karakterisasi patogen penyebab tumor pada tanaman mawar tersebut perlu dilakukan.

*Agrobacterium* merupakan bakteri berbentuk batang pendek, motil (dapat bergerak), flagela peritrik, menyebabkan hipertropi yang berupa *gall* pada akar dan batang. Hanya ada 4 jenis dari genus *Agrobacterium* yang merupakan patogen tanaman yaitu *Agrobacterium tumefaciens*, *Agrobacterium rhizogenes*, *Agrobacterium vitis*, *Agrobacterium rubi* dan yang paling dikenal dalam menyebabkan penyakit *crown gall* atau bengkak pada pangkal batang tanaman mawar yaitu *Agrobacterium tumefaciens* (Agrios, 1997). Keempat jenis dari spesies *Agrobacterium* sp. dapat membentuk *gall* dengan nama penyakitnya yang berbeda-beda. Spesies *Agrobacterium tumefaciens* dapat menyebabkan penyakit *crown gall*; spesies *Agrobacterium rhizogenes* dapat menyebabkan penyakit *hairy roots*; spesies

*Agrobacterium vitis* dapat menyebabkan penyakit *gall on grape*; spesies *Agrobacterium rubi* dapat menyebabkan penyakit *cane gall*.

*Agrobacterium tumefaciens* termasuk kedalam OPTK kategori A2 pada UU Karantina Pertanian. Sebelum termasuk kedalam OPTK kategori A2, spesies *Agrobacterium tumefaciens* ini masuk kedalam OPTK kategori A1 dimana diberikan kepada organisme pengganggu tumbuhan yang tidak ada di wilayah republik Indonesia, mempunyai kemampuan penyebaran yang tinggi, sedangkan cara pengendaliannya belum diketahui atau belum diterapkan. Pada akhirnya didalam catatan Balai Besar Karantina Pertanian Indonesia, penyakit ini sudah ada dan menyerang di Provinsi Lampung. Berdasarkan informasi diatas bahwa bakteri penyebab penyakit bengkak mahkota pada tanaman mawar disebabkan oleh bakteri *Agrobacterium tumefaciens*. Untuk mengetahui jenis bakteri penyebab penyakit bengkak mahkota pada tanaman mawar di Batu maka perlu dilakukan pengujian di laboratorium.

### 1.3 Tujuan

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui jenis bakteri penyebab penyakit bengkak mahkota pada tanaman mawar di Batu.

### 1.4 Hipotesis

Hipotesis yang diajukan dalam penelitian ini adalah bakteri penyebab penyakit bengkak mahkota pada tanaman mawar di Batu adalah *Agrobacterium tumefaciens*.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Morfologi dan Klasifikasi Tanaman Mawar

Mawar termasuk tanaman tahunan (perennial) yang mempunyai struktur batang berkayu keras, berduri, bercabang banyak, menghasilkan bunga, buah dan biji terus menerus. Selama siklus hidupnya, tanaman mawar terus tumbuh seolah-olah tidak terbatas dan masa produksinya berulang-ulang. Suku mawar-mawaran (Rosaceae) banyak sekali jenis dan varietasnya. Telah tercatat lebih dari 200 spesies dan 5000 macam hibrida mawar tersebar luas ditanam di seluruh dunia. Dalam sistematika tumbuhan (taksonomi), mawar diklasifikasikan ke dalam Kingdom Plantae, Divisi Spermatophyta, Sub Divisi Angiospermae, Kelas Dicotyledonae, Ordo Rosanales, Famili Rosaceae dan Genus Rosa (Rukmana, 1995).

Spesies mawar umumnya merupakan tanaman semak yang berduri atau tanaman memanjat yang tingginya bisa mencapai 2 sampai 5 meter. Walaupun jarang ditemui, tinggi tanaman mawar yang merambat di tanaman lain bisa mencapai 20 meter. Sebagian besar spesies mempunyai daun yang panjangnya antara 5-15 cm, dua-dua berlawanan (*pinnate*). Daun majemuk yang tiap tangkai daun terdiri dari paling sedikit 3 atau 5 hingga 9 atau 13 anak daun dan daun penumpu (stipula) berbentuk lonjong, pertulangan menyirip, tepi tepi beringgit, meruncing pada ujung daun dan berduri pada batang yang dekat ke tanah. Mawar sebetulnya bukan tanaman tropis, sebagian besar spesies merontokkan seluruh daunnya dan hanya beberapa spesies yang ada di Asia Tenggara yang selalu berdaun hijau sepanjang tahun (Anonymous, 2010a).

Mawar selain sebagai tanaman hias yang cantik dan penuh pesona daya tampilnya, juga merupakan sarana peralatan tradisional, agama, dan upacara kenegaraan. Disamping itu, bunga mawar bermanfaat sebagai bahan makanan dan minuman, obat, pewangi, dan pengindah tata lingkungan. Bunga mawar sebagai bahan makanan atau minuman yang sekaligus berkhasiat obat di antaranya telah dirintis sewaktu Perang Dunia II di Inggris yakni dijadikan sumber vitamin C. Dalam

kehidupan sehari-hari tanaman mawar dimanfaatkan untuk berbagai keperluan, diantaranya adalah sebagai tanaman hias di taman atau halaman terbuka, sebagai tanaman hias dalam pot pengindah dan penyemarak ruang tamu atau koridor, dijadikan bunga tabur pada upacara kenegaraan atau tradisi ritual, diekstraksi minyaknya sebagai bahan parfum dan obat-obatan (Rukmana, 1995).

## 2.2 Syarat Pertumbuhan Tanaman Mawar

Untuk syarat pertumbuhan tanaman mawar dipengaruhi oleh 3 faktor yaitu iklim, media tanam dan ketinggian tempat. Curah hujan bagi pertumbuhan bunga mawar yang baik adalah 1500-3000 mm/tahun. Memerlukan sinar matahari 5-6 jam per hari. Di daerah cukup sinar matahari, mawar akan rajin dan lebih cepat berbunga serta berbatang kokoh. Sinar matahari pagi lebih baik dari pada sinar matahari sore, yang menyebabkan pengeringan tanaman. Tanaman mawar mempunyai daya adaptasi sangat luas terhadap lingkungan tumbuh, dapat ditanam di daerah beriklim dingin/sub-tropis maupun di daerah panas/tropis. Suhu udara sejuk 18-26°C dan kelembaban 70-80% (Rukmana, 1995).

Penanaman dilakukan secara langsung pada tanah secara permanen di kebun atau di dalam pot. Tanaman mawar cocok pada tanah liat berpasir (kandungan liat 20-30 %), subur, gembur, banyak bahan organik, aerasi dan drainase baik. Derajat keasaman tanah yang ideal adalah PH=5,5-7,0. Pada tanah asam (pH 5,0) perlu pengapuran kapur Dolomit, Calcit atupun Zeagro dosis 4-5 ton/hektar. Pemberian kapur bertujuan untuk menaikkan pH tanah, menambah unsur-unsur Ca dan Mg, memperbaiki kehidupan mikroorganisme, memperbaiki bintil-bintil akar, mengurangi keracunan Fe, Mn, dan Al, serta menambah ketersediaan unsur-unsur P dan Mo. Tanah berpori-pori sangat dibutuhkan oleh akar mawar (Rukmana, 1995).

Mawar tumbuh baik pada ketinggian 560-800 m dpl, suhu udara minimum 16-18°C dan maksimum 28-30°C. Di daerah tropis seperti Indonesia, tanaman mawar dapat tumbuh dan produktif berbunga di dataran rendah sampai tinggi (pegunungan) rata-rata 1500 m dpl (Rukmana, 1995).

Tanaman mawar juga memiliki beberapa manfaat diantaranya sebagai tanaman hias di taman/halaman terbuka (out doors) atau bisa juga dalam pot pengindah dan penyemarak ruang tamu ataupun koridor, selain itu juga dapat dijadikan bunga tabur pada upacara kenegaraan atau tradisi ritual dan diekstraksi minyaknya sebagai bahan parfum atau obat-obatan (Rukmana, 1995).

### 2.3 Penyakit Bengkak Mahkota (*Crown Gall*)

Tanaman yang terserang penyakit crown gall menampilkan gejala yakni merangsang perbanyakan sel jaringan tanaman sehingga terjadi gejala hiperplasia yaitu sel-sel menjadi lebih besar (Sastrahidayat, 1990). Penyakit ini dapat menyerang tanaman seperti apel, pir, cherry, apricot, walnut, almond, bunga krisantenum, bunga mawar, anggur dan rasbery (Kado, 2002). Menurut website karantina pertanian penyakit ini termasuk kedalam OPTK kategori A-2 (Anonymous, 2011a). Kategori A-2 diberikan terhadap organisme pengganggu tumbuhan yang telah berada di wilayah Republik Indonesia, dengan kemampuan penyebaran masih terbatas (BKT, 2006).



Gambar 1. Penyakit crown gall pada tanaman mawar (Anonymous, 2011b)

### 2.4 Bakteri Patogen Genus *Agrobacterium* sp

Genus *Agrobacterium* digolongkan kedalam famili Rhizobiaceae, bakteri gram-negatif yang merupakan bakteri aerob. *Agrobacterium* berbentuk batang, berukuran 0.6-1.0  $\mu\text{m}$  sampai 1.5-3.0  $\mu\text{m}$ , dalam bentuk tunggal atau berpasangan.

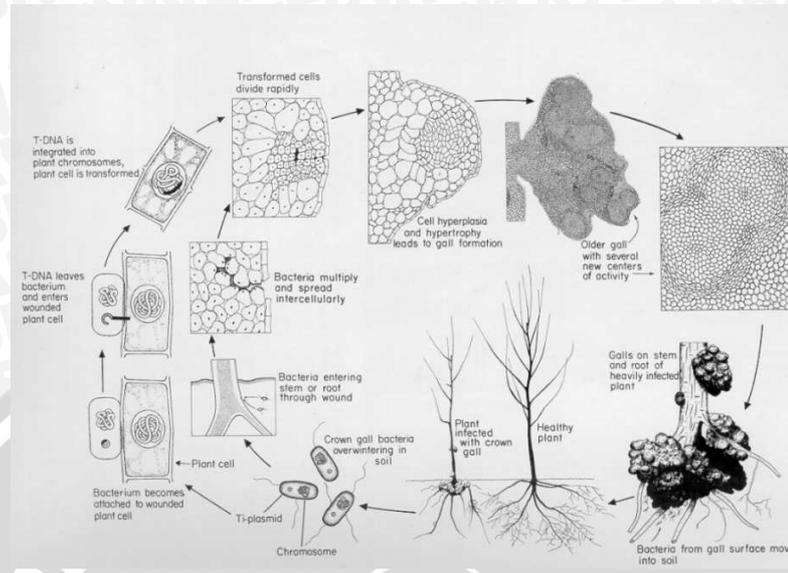
*Agrobacterium* merupakan bakteri yang mudah bergerak (motil) dan memiliki 1-6 flagela peritrichous serta merupakan bakteri tak berspora (Schaad, 2000).

Tanaman yang terinfeksi, beberapa strains dari *Agrobacterium* menimbulkan pertumbuhan sel yang abnormal akibatnya adanya tumor yang terjadi dan biasanya disebut dengan *crown gall* (Schaad, 2000). Strain patogen *Agrobacterium* umumnya mengandung sedikitnya satu plasmid besar, diantaranya tumor atau infeksi akar (Ti atau Ri) plasmid. Fungsi dari plasmid membedakan inang/bagian yang terserang untuk mengetahui transfer DNA dan gen virulen (Schaad, 2000).

### 2.5 Bakteri Penyebab Penyakit Bengkak Mahkota

Agen penyebab (causative agent) penyakit *crown gall*, yaitu *Agrobacterium tumefaciens*, digolongkan kedalam famili Rhizobiaceae. Sebagian besar genus *Agrobacterium* menyebabkan tumor pada tanaman dikotil. Spesies *Agrobacterium tumefaciens* tergolong bakteri gram-negatif yang merupakan bakteri aerob dan mampu hidup baik sebagai saprofit maupun parasit. Spesies bakteri *Agrobacterium tumefaciens* diklasifikasikan ke dalam Kerajaan Bacteria, Filum Proteobacteria, Kelas Alpha Proteobacteria, Ordo Rhizobiales, Famili Rhizobiaceae, dan Genus *Agrobacterium*. Secara alami, *A. tumefaciens* dapat menginfeksi tanaman dikotiledon melalui bagian tanaman yang terluka sehingga menyebabkan tumor mahkota (*crown gall*). Bakteri yang tergolong ke dalam gram negatif ini memiliki sebuah plasmid besar yang disebut plasmid-Ti yang berisi gen penyandi faktor virulensi penyebab infeksi bakteri ini pada tanaman (Wibowo dkk, 2006).

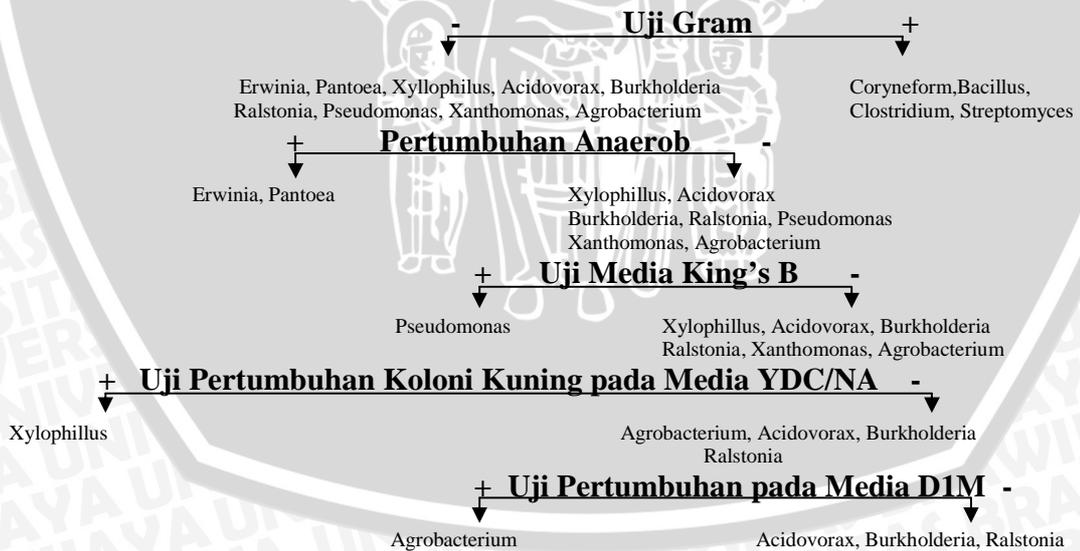
Bakteri penyebab penyakit ini berasal dari patogen tanah dan dapat bertahan ditanah selama bertahun-tahun. Tanaman mawar yang terluka karena beberapa faktor (alami atau buatan) maka bakteri tersebut dapat masuk ke jaringan tanaman. DNA pada bakteri masuk kedalam sel tumbuhan dan pertumbuhan yang berlebih mulai terbentuk mengakibatkan jaringan mengalami kerusakan (Gambar 2). Bakteri ini dapat bertahan selama bertahun-tahun didalam tanah dan dapat berpindah ke air atau bagian yang lain yang telah terinfeksi (Horst, 1983).



Gambar 1. Siklus Hidup *Agrobacterium tumefaciens* (Agrios, 1988)

### 2.6 Identifikasi Bakteri Penyebab Penyakit Bengkak Mahkota

Uji fisiologi dan biokimia digunakan untuk mengidentifikasi bakteri berdasarkan reaksi metabolisme tahap genus yang telah dirumuskan dan diurutkan menurut Schaad (2000) (Gambar 3).



Gambar 2. Bagan Identifikasi Genus dari Bakteri Penyebab Penyakit Bengkak Mahkota pada Tanaman yang Mengacu pada Schaad et al. (2000)



Uji Fisiologi dan Biokimia digunakan untuk mengidentifikasi bakteri berdasarkan reaksi metabolisme tahap spesies yang telah dirumuskan menurut Schaad (2000) (Tabel 1).

Tabel 1. Karakteristik Spesies dari Genus *Agrobacterium* menurut Schaad (2000)

Uji	<i>A.tumefaciens</i>	<i>A.rhizogenes</i>	<i>A.vitis</i>
Produksi 3-ketolaktose	+	-	V
Pertumbuhan pada NaCl 2%	+	-	+
Pertumbuhan pada suhu 35°C	+	V	V
Action on litmus milk	ALK	AC	ALK
Produksi asam dari :			
Erythritol	-	+	-
Melezitose	+	-	-
Alkali dari :			
Asam Malonic	-	+	+
Asam L-tartaric	-	+	+
Asam Mucic	-	+	-
Ferric Ammonium Citrate	+	-	-
Reaksi oksidasi	+	V	V
Penggunaan sitrat	V	+	+

Keterangan :

+, 80% atau lebih strain positif ; V, diantara 21-79% strain positif ; -, 80% atau lebih strain negatif ; ALK, alkaline ; AC, asam

## **BAB III**

### **METODE PELAKSANAAN**

#### **3.1 Tempat dan Waktu**

Penelitian dilakukan di laboratorium Bakteri Jurusan Hama dan Penyakit Tumbuhan Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya Malang. Penelitian dilaksanakan pada bulan Februari 2011 sampai November 2011.

#### **3.2 Alat dan Bahan**

Alat yang digunakan dalam penelitian adalah lampu bunsen, jarum ose, cawan petri, kompor listrik, autoclaf, botol media, mikroskop, oven, inkubator, tabung reaksi, gunting, gelas obyek, cover glass, pipet, jarum inokulasi, gelas ukur, timbangan, jarum suntik dan penggaris.

Bahan yang digunakan dalam penelitian adalah aquades, spiritus, alkohol 70%, aquades steril, kertas saring steril, tisu steril, kapas, kertas whatman, NaOH 40%, iodine, safranin, kristal violet, skim milk 20%, streptomycin sulfat, bakterisida Agrept 20WP, NaCl 2%, nutrient broth, bacto agar, peptone, NaCl,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , bromthymol blue (1% aquades), glukosa (10% aquades), cellobiose,  $\text{NH}_4\text{Cl}$ ,  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ ,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , malachite green, glycerol.

#### **3.3 Metode Penelitian**

##### **Persiapan Penelitian**

##### **Pembuatan Media**

##### **Media Nutrient Broth Agar (NA)**

Agar 15 gram dilarutkan ke dalam 0,75 liter aquades dengan cara dididihkan dalam panci sambil diaduk. Setelah mendidih, nutrient broth 8 gram yang telah dilarutkan dalam 0,25 liter aquades dicampur, kemudian dibagi kedalam beberapa botol steril masing-masing berisi  $\pm 100$  ml media. Botol-botol yang telah berisi media tersebut disterilkan dalam autoklaf pada temperatur  $121^\circ\text{C}$  selama  $\pm 20$  menit.

### **Media Oksidatif-Fermentatif (Media OF)**

Agar 3 gram dilarutkan ke dalam 0,75 liter aquades dengan cara didihkan dalam panci sambil diaduk. Setelah mendidih peptone 2 gram, NaCl 5 gram,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0,3 gram, bromthymol blue (1% aquades) 3 ml dilarutkan dalam 0,25 liter aquades dan dicampur. Kemudian dilakukan pengaturan PH 7,1 yang disesuaikan pada kertas indikator PH dengan cara menambahkan beberapa tetes NaOH 40 %. Media tersebut dibagi kedalam beberapa botol steril masing-masing berisi  $\pm 2$  ml media kemudian glukosa dimasukkan sebanyak 0,2 ml. Botol-botol yang telah berisi media tersebut disterilkan dalam autoklaf pada temperatur  $121^\circ\text{C}$  selama  $\pm 20$  menit.

### **Media Water Agar 3%**

Agar 3 gram dilarutkan ke dalam 100 ml aquades dengan cara didihkan dalam panci sambil diaduk sampai mendidih. Kemudian dimasukkan kedalam botol media berisi 100ml. Botol yang telah berisi media tersebut disterilkan dalam autoklaf pada temperatur  $121^\circ\text{C}$  selama  $\pm 20$  menit.

### **Media King's B**

Agar 15 gram dilarutkan ke dalam 0,75 liter aquades dengan cara didihkan dalam panci sambil diaduk. Setelah mendidih peptone 20 gram,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  1,5 gram,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  1,5 gram, glycerol 15 ml yang telah dilarutkan dalam 0,25 liter aquades dicampur, kemudian dibagi kedalam beberapa botol steril masing-masing berisi  $\pm 100$  ml media. Botol-botol yang telah berisi media tersebut disterilkan dalam autoklaf pada temperatur  $121^\circ\text{C}$  selama  $\pm 20$  menit.

### **Media D1M**

Agar 15 gram dilarutkan ke dalam 0,75 liter aquades dengan cara didihkan dalam panci sambil diaduk. Setelah mendidih cellobiose 5 gram,  $\text{NH}_4\text{Cl}$  1 gram,  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  1 gram,  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  1 gram,  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  3 gram, malachite green 10 mg yang telah dilarutkan dalam 0,25 liter aquades dicampur, kemudian dibagi kedalam

beberapa botol steril masing-masing berisi  $\pm 100$  ml media. Botol-botol yang telah berisi media tersebut disterilkan dalam autoklaf pada temperatur  $121^{\circ}\text{C}$  selama  $\pm 20$  menit.

#### **Media NB**

Nutrient Broth 8 gram dilarutkan ke dalam 1 liter aquades dengan cara dididihkan dalam panci sambil diaduk. Setelah mendidih, kemudian dibagi kedalam beberapa tabung reaksi steril masing-masing berisi  $\pm 5$  ml media. Tabung reaksi yang telah berisi media tersebut disterilkan dalam autoklaf pada temperatur  $121^{\circ}\text{C}$  selama  $\pm 20$  menit.

#### **Media NB NaCl 2%**

Nutrient Broth 0,8 gram dilarutkan ke dalam 100 ml aquades dengan cara dididihkan dalam panci sambil diaduk. Setelah mendidih 2 gram NaCl dicampur, kemudian dibagi kedalam beberapa tabung reaksi steril masing-masing berisi  $\pm 5$  ml media. Tabung reaksi yang telah berisi media tersebut disterilkan dalam autoklaf pada temperatur  $121^{\circ}\text{C}$  selama  $\pm 20$  menit.

#### **Isolasi Bakteri Patogen**

Bakteri patogen diisolasi dari batang tanaman mawar yang terserang penyakit tumor batang yang dicirikan dengan gejala nampak seperti tumor pada batang tanaman mawar. Tumor yang masih muda tersebut direndam dengan alkohol 75% selama 1-2 menit, lalu tumor direndam dengan aquades steril 2-3 menit, hasil rendaman direndam kembali dengan aquadest steril ditempat yang berbeda selama 2-3 menit kemudian dikeringkan diatas tisu kering. Selanjutnya tumor tersebut diletakkan pada media NA dengan pinset dan inkubasi selama 48-72 jam. Biakan yang tumbuh diisolasi kembali sehingga didapatkan biakan murni. Hasil isolasi didapatkan delapan biakan murni kemudian diberi nama At 1, At 2, At 3, At 4, At 5, At 6, At 7, At 8 selanjutnya disimpan didalam tabung apendof dan diletakkan pada

alat pendingin  $-20^{\circ}\text{C}$ . Isolat bakteri patogen yang telah disimpan didalam alat pendingin dikeluarkan dan dibiakkan pada media NA untuk melakukan identifikasi.

## **Pelaksanaan Penelitian**

### **Identifikasi Bakteri Patogen**

Isolat-isolat bakteri patogen yang diperoleh dari hasil isolasi diidentifikasi berdasarkan kunci identifikasi Laboratory Guide for Identification of Plant Pathogenic Bacteria meliputi uji Fisiologi dan Biokimia. Identifikasi bakteri patogen dilakukan menurut Schaad (1988) untuk tingkat genus adalah uji Gram, uji oksidatif-fermentatif, uji pada media King'S B agar, uji media NA dengan koloni tidak berwarna kuning, uji pertumbuhan di media D1M.

Identifikasi patogen untuk tingkat spesies adalah uji pertumbuhan pada 2% NaCl, uji pertumbuhan pada suhu  $35^{\circ}\text{C}$ . Sedangkan uji produksi 3-ketolaktose, action on litmus milk, produksi asam, produksi sitrat, ferric ammonium sitrat, alkali, reaksi oksidasi tidak dilakukan karena keterbatasan bahan.

### **Uji Tahap Genus**

#### **Uji Gram**

Suspensi bakteri berumur 2x24 jam diletakkan pada gelas obyek steril kemudian dikeringkan diatas lampu bunsen. Sediaan ditetesi dengan kristal violet dan dibiarkan selama 1 menit kemudian dicuci dan dikeringkan. Setelah itu sediaan ditetesi dengan Iodine dan dibiarkan selama 1 menit, dicuci dan dikeringkan. Warna utama dihilangkan dengan alkohol 95% sampai zat warna ungu dan kristal violet tidak lagi terlihat mengalir dari gelas obyek, dicuci dan dikeringkan. Kemudian ditetesi dengan larutan safranin dan dibiarkan selama 1 menit, dicuci dan dikeringanginkan. Sediaan diamati dibawah mikroskop. Gram negatif ditunjukkan oleh warna merah terang dan Gram positif warna ungu gelap.

### **Uji Anaerob**

Uji ini dilakukan untuk mengetahui apakah bakteri yang didapat dalam eksplorasi termasuk dalam golongan anaerob atau aerob. Perlakuan dalam uji pertumbuhan anaerob mengacu pada Schaad et al. (2000) adalah media dimasukkan ke dalam dua tabung reaksi steril sebanyak 2,5 ml. Isolat bakteri uji berumur 48 jam ditusukkan ke dalam media pada kedua tabung reaksi tersebut. Salah satu dari tabung ditutup dengan media water agar 3% steril sebanyak 2,5 ml kemudian diinkubasikan selama 7-14 hari. Reaksi oksidatif atau oksigen bebas ditunjukkan dengan perubahan warna media menjadi kuning pada tabung yang terbuka sedangkan reaksi fermentatif ditunjukkan terjadinya warna kuning pada kedua tabung.

### **Uji Media King's B**

Pada bakteri tertentu akan menghasilkan pigmen flourescens, dengan warna bermacam-macam tergantung jenis bakteri yang diuji. Untuk mengetahui suatu bakteri menghasilkan flourescens atau tidak, maka dilakukan dengan menumbuhkan bakteri pada media King's B.

Media dimasukkan kedalam petridish sebanyak 5ml. Isolat bakteri uji berumur 24-48 jam dimasukkan dengan cara streak menggunakan jarum ose. Reaksi positif ditunjukkan dengan mengamati biakan bakteri uji yang telah diinkubasi selama 48 jam. Kemudian dibawah sinar ultraviolet akan tampak warna hijau atau biru yang mengkilat.

### **Uji Pertumbuhan Koloni Kuning pada Media NA**

Pengujian Uji Pertumbuhan Koloni Kuning pada Media NA menggunakan media NA untuk menumbuhkan bakteri. Pengujian ini melihat perbedaan antara bakteri yang dapat tumbuh dan warna koloni kuning.

Media dimasukkan kedalam petridish sebanyak 5ml. Isolat bakteri uji berumur 24-48 jam dimasukkan dengan cara streak menggunakan jarum ose. Diamati selama 48 jam. Reaksi positif akan ditunjukkan oleh warna koloni berwarna kuning.

### **Uji Pertumbuhan pada Media D1M**

Media dimasukkan kedalam petridish sebanyak 5ml. Isolat bakteri uji berumur 24-48 jam dimasukkan dengan cara streak menggunakan jarum ose. Diamati selama 5 hari. Reaksi positif akan ditunjukkan dengan munculnya koloni bakteri.

### **Uji Tahap Spesies**

#### **Uji Pertumbuhan pada 2% NaCl**

Media NB cair dalam 2% NaCl dimasukkan kedalam petridish sebanyak 5ml. Isolat bakteri uji berumur 24-48 jam dimasukkan kedalam media biakan. Diamati selama 48 jam. Reaksi positif akan ditunjukkan dengan berubahnya warna media menjadi keruh.

#### **Uji Pertumbuhan pada Suhu 35°C**

Media NB cair dimasukkan kedalam tabung reaksi sebanyak 5ml. Isolat bakteri uji berumur 24-48 jam dimasukkan kedalam media biakan. Diamati selama 24 jam pada suhu 35°C. Reaksi positif akan ditunjukkan dengan berubahnya warna media menjadi keruh.

### **Uji Patogenesitas**

Pengujian ini dilakukan untuk mengetahui apakah isolat-isolat yang diperoleh merupakan patogen pada tanaman mawar atau bukan dengan melihat gejala penyakit yang terjadi setelah tanaman diinokulasi.

Isolat-isolat yang telah teridentifikasi di uji daya patogenesitasnya dengan menginokulasikan pada batang bibit tanaman mawar yang diperoleh dari Batu, jenis mawar yang digunakan adalah mawar lokal. Inokulasi dilakukan dengan cara melukai batang tanaman mawar yang sehat dengan menusuk-nusukkan jarum suntik yang sebelumnya sudah ditetesi suspensi bakteri. Tanaman-tanaman yang dinokulasi disiram setiap hari dan dilakukan pengamatan terhadap gejala yang timbul serta masa

inkubasi. Pengamatan dilakukan sampai muncul gejala penyakit bengkak mahkota pada tanaman mawar.

### Uji Antibiotik

Tujuan percobaan untuk mengetahui efektifitas senyawa antibiotik streptomycin sulfat dalam penghambatan bakteri penyebab penyakit ini.

Pengujian penghambatan bakteri penyebab penyakit terhadap antibiotik dilakukan secara *in vitro* (pada media agar). Antibiotik yang digunakan adalah streptomycin sulfat dan bakterisida agrept 20WP. Masing-masing antibiotik tersebut diujikan dengan konsentrasi 100 ppm, 250 ppm, 500 ppm, 750 ppm, dan 1000 ppm.

Setiap antibiotik dilarutkan dalam aquades steril sampai pada masing-masing konsentrasi perlakuan. Kertas filter Whatman no. 1 yang telah dipotong dengan perforator disterilkan dalam autoklaf pada temperatur  $121^{\circ}\text{C}$  selama  $\pm 20$  menit, kemudian dicelupkan ke dalam berbagai macam larutan antibiotik pada masing-masing konsentrasi. Selanjutnya masing-masing dari potongan kertas yang telah mengandung antibiotik tersebut dimasukkan ke dalam petridish steril secara sendiri-sendiri berdasarkan konsentrasinya.

Potongan-potongan kertas yang telah berada dalam petridish tersebut dikeringkan dalam oven pada temperatur  $\pm 35^{\circ}\text{C}$ . Potongan-potongan kertas yang telah kering diambil dengan pinset, dan diletakkan diatas media NA (dalam petridish) yang mengandung bakteri.

Bakteri yang diuji dengan antibiotik tersebut ditumbuhkan dalam inkubator pada suhu  $\pm 30^{\circ}\text{C}$  selama 24-48 jam, kemudian diamati adanya daerah hambatan (inhibiton zone) akibat antibiotik tersebut. Reaksi positif ditunjukkan oleh adanya warna terang disekitar potongan kertas filter yang mengandung antibiotik serta diukur pula garis tengah daerah hambatannya.

## BAB IV

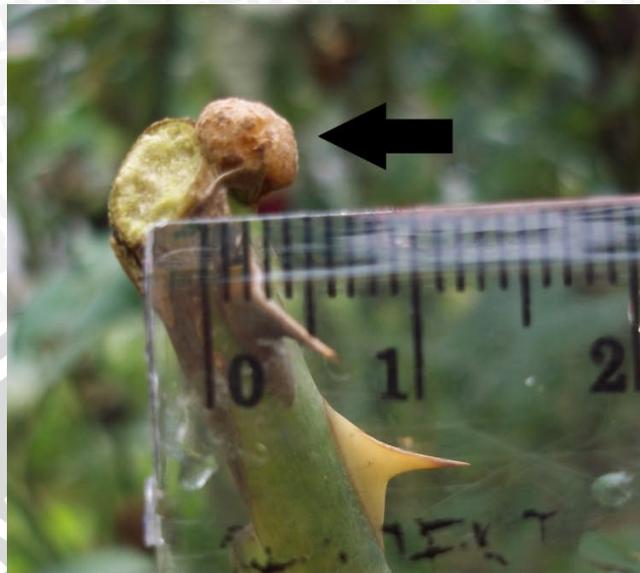
### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 4.1 Deskripsi Gejala Bengkak Mahkota

Batang yang terserang bengkak mahkota pada tanaman mawar di Kota Batu menunjukkan adanya gejala seperti tumor (*crown gall*) pada bekas pangkasan di batang. Berdasarkan hasil pengamatan bahwa tumor akan muncul mulai dari ukuran bekas 0,1 cm dengan warna coklat muda (Gambar 4) lama kelamaan warna tumor menjadi coklat gelap hingga hitam dan ukuran tumor sampai 10 cm (Gambar 5). Ukuran tumor yang sudah besar terdapat seperti tanah halus disekitar tumor. Bentuk dari tumor tersebut bulat tidak teratur dan dalam satu tanaman bisa terdiri dari 1-10 tumor. Dugaan diperkuat oleh pernyataan Partridge (2008) bahwa gejala awal dari tumor berwarna coklat muda dan halus sedangkan tumor yang sudah tua berwarna coklat tua dan kasar.



Gambar 3. Kebun mawar yang berada di desa Bumiaji Batu



Gambar 4. Gejala tumor yang masih berwarna coklat muda dan ukuran belum cukup besar sekitar 0,5 cm



Gambar 5. Gejala tumor yang berwarna coklat tua kehitaman dan ukuran sudah cukup besar sekitar 5 cm

#### 4.2 Isolasi Bakteri dari Tumor pada Pangkal Batang

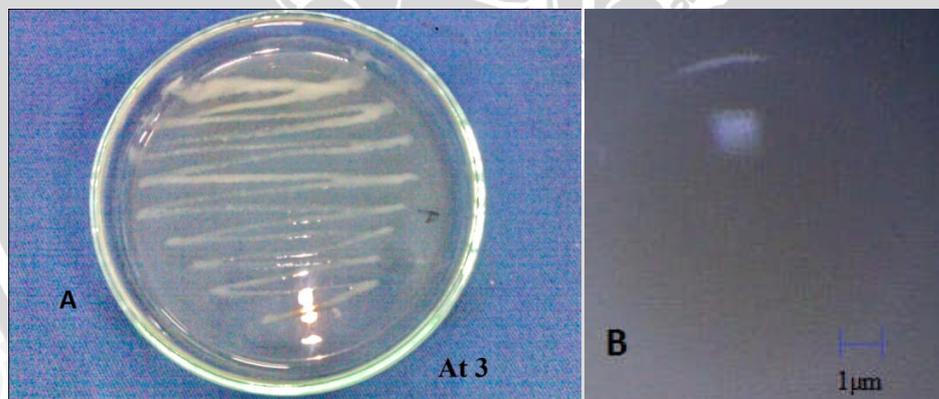
Bakteri yang disolasi dari tanaman mawar menunjukkan perbedaan lama inkubasi untuk pembentukan koloni yakni 24-48 jam setelah inokulasi. Perbedaan munculnya koloni bakteri diduga karena dipengaruhi oleh kebutuhan nutrisi dan lingkungan. Dugaan diperkuat oleh pernyataan Mehrotra (1978) bahwa

mikroorganisme membutuhkan nutrisi yang cocok untuk pertumbuhannya, komposisi media dapat mempercepat atau menghambat pertumbuhan mikroorganisme tertentu. Oleh karena itu komposisi media dapat digunakan juga dalam seleksi mikroorganisme. Sama halnya dengan pernyataan Salle (1961) bahwa kecepatan berkembang bakteri tergantung pada kondisi nutrisi dan lingkungan yang dibutuhkan oleh bakteri. Nutrisi maupun kondisi lingkungan yang cocok dapat mempercepat pertumbuhan bakteri sedangkan jika nutrisi maupun kondisi lingkungan tidak cocok maka dapat menghambat pertumbuhan bakteri.

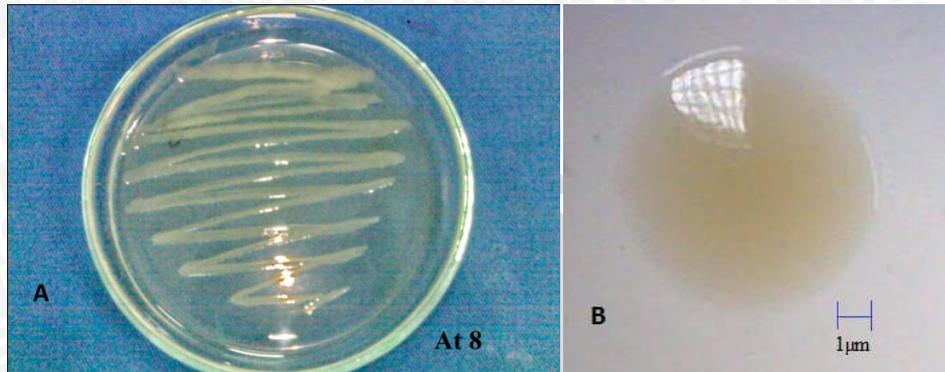
### 4.3 Identifikasi Bakteri Penyebab Bengkak Mahkota

#### Morfologi Koloni

Bentuk koloni bakteri pada At 1, At 2, At 3, At 4 yang didapat dari tanaman mawar pada saat ditumbuhkan pada media NA adalah berwarna putih dengan bentuk koloni bulat dengan permukaan cembung dan halus dengan tepian teratur (Gambar 6). Sedangkan isolat At 5, At 6, At 7, dan At 8 berwarna kuning dengan bentuk koloni bulat dengan permukaan cembung dan halus dengan tepian teratur (Gambar 7).



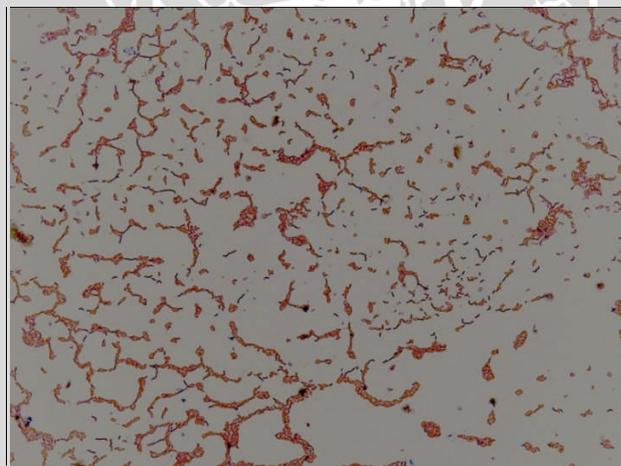
Gambar 6. Koloni bakteri uji At3 pada media biakan NA. (A) Gambar Makroskopis, (B) Gambar Mikroskopis dengan perbesaran 67,5x



Gambar 7. Koloni bakteri uji At8 pada media biakan NA. (A) Gambar Makroskopis, (B) Gambar Mikroskopis dengan perbesaran 67,5x

### Uji Fisiologi dan Biokimia

Untuk menentukan genus dan spesies penyebab penyakit dilakukan pengujian morfologis dan fisiologis. Hasil pengecatan Gram menunjukkan semua isolat menunjukkan reaksi gram negatif. Pada pengecatan gram menunjukkan warna merah transparan yang berarti reaksi negatif (golongan gram negatif) (Gambar 8).



Gambar 8. Warna dinding sel bakteri pada hasil uji pengecatan gram pembesaran 1000x

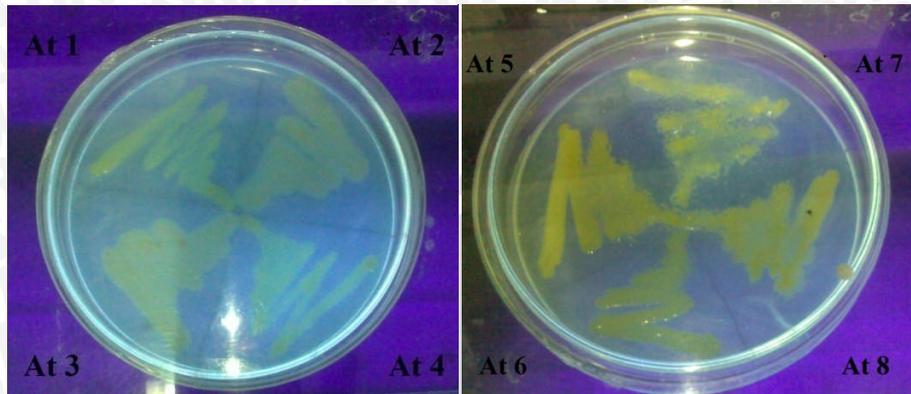
Hasil uji anaerob pada hari ketujuh, semua isolat yakni At1, At2, At3, At4, At5, At6, At7, At8 menunjukkan hasil yang negatif bahwa bakteri tersebut bersifat

aerob atau oksidatif yang ditunjukkan adanya perbedaan warna antara media pada tabung yang ditutup dengan water agar dan tidak. Pada tabung yang ditutup dengan media water agar, media tidak berubah warna sedangkan media yang tidak ditutup dengan media water agar berubah warna menjadi kuning (Gambar 9).

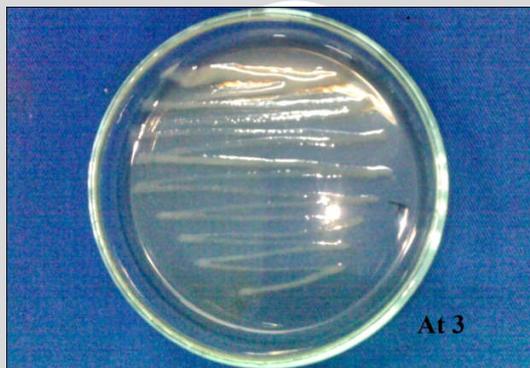


Gambar 9. Perbedaan warna media pada tabung reaksi yang ditutup dengan media WA dan tidak ditutup pada uji anaerob. a: Media OF yang tidak ditutup dengan media WA, b: Media OF yang ditutup dengan media WA

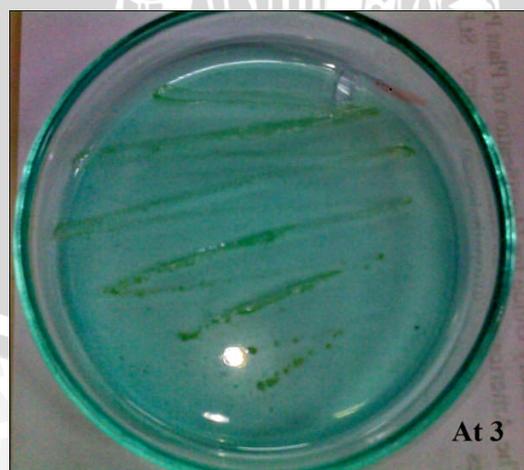
Hasil Uji Fluorescen pada semua isolat yaitu At1, At2, At3, At4, At5, At6, At7, At8 menunjukkan reaksi negatif yang ditunjukkan dengan tidak adanya sinar pendaran pada koloni bakteri yang tumbuh jika dilihat di bawah sinar ultraviolet (Sinar UV) (Gambar 10). Hasil uji pertumbuhan koloni kuning pada media NA yang menunjukkan hasil negatif yakni isolat At1, At2, At3, At4 dimana ditunjukkan dengan pertumbuhan koloni tidak berwarna kuning (Gambar 11). Hasil uji pertumbuhan media D1M menunjukkan hasil positif dengan isolat At2, At3, At4. Reaksi positif ditunjukkan yaitu koloni bakteri dapat tumbuh pada media D1M (Gambar 12).



Gambar 10. Koloni bakteri uji tidak menunjukkan koloni berpendar pada saat dilihat di sinar ultraviolet pada uji flourescen



Gambar 11. Koloni bakteri uji At3 berwarna putih pada media biakan NA pada saat uji warna koloni di media NA



Gambar 12. Koloni bakteri uji At3 yang dapat tumbuh pada media biakan D1M

Hasil keseluruhan pengujian fisiologi dan biokimia dari kedelapan isolat dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Sifat morfologis dan fisiologis masing-masing isolat bakteri penyebab penyakit bengkak mahkota pada tanaman mawar

Uji	Reaksi							
	Isolat							
	AT1	AT2	AT3	AT4	AT5	AT6	AT7	AT8
Pewarnaan Gram	M	M	M	M	M	M	M	M
Uji Oksidatif-Fermentatif	O	O	O	O	O	O	O	O
Uji Flourescens	-	-	-	-	-	-	-	-
Uji koloni kuning pada Media YDC/NA	-	-	-	-	+	+	+	+
Pertumbuhan pada Media D1M	-	+	+	+	-	-	-	-
Uji pertumbuhan pada 2% NaCl	-	-	+	+	-	-	-	-
Uji pertumbuhan pada suhu 35°C	-	-	+	+	-	-	-	-

Keterangan :  
M: Merah , O: Oksidatif, (-): Negatif, (+), Positif

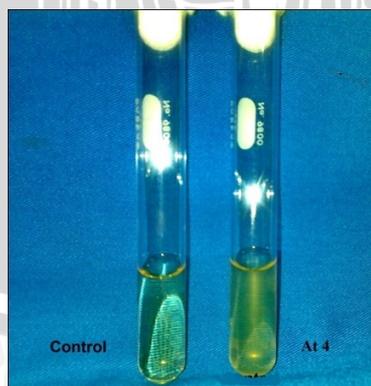
Berdasarkan tabel 2 diketahui bahwa isolat At2, At3, dan At4 memiliki karakteristik Gram negatif, bersifat oksidatif, tidak berpendar pada uji flourecens, koloni berwarna putih pada media NA, dapat tumbuh pada media D1M. Berdasarkan buku identifikasi bakteri patogen bahwa isolat At2, At3, dan At4 termasuk dalam genus *Agrobacterium*. Sedangkan isolat At1 memiliki karakteristik Gram negatif, bersifat oksidatif, tidak berpendar pada uji flourecens, koloni berwarna putih pada media NA, tetapi tidak dapat tumbuh pada media D1M dan pada isolate At5, At6, At7, dan At8 memiliki karakteristik Gram negatif, bersifat oksidatif, tidak berpendar pada uji flourecens, koloni berwarna kuning pada media NA, sehingga isolat At1, At5, At6, At7, dan At8 bukan termasuk dalam genus *Agrobacterium*.

Isolat At2, At3, dan At4 kemudian dilanjutkan uji untuk menentukan spesies. Spesies *Agrobacterium tumefaciens* memiliki karakteristik produksi 3-ketolaktose, dapat tumbuh pada NaCl2%, dapat tumbuh pada suhu 35°C, bersifat alkaline, produksi asam dari melezitose, dapat tumbuh pada media ferric ammonium sitrat,

reaksi oksidasi. Pada penelitian ini hanya dipilih 2 karakter yaitu uji pertumbuhan pada NaCl 2% dan uji pertumbuhan pada suhu 35°C karena keterbatasan bahan. Hasil pengujian pada isolat At2, At3, dan At4 menunjukkan bahwa At3 dan At4 dapat tumbuh pada NaCl 2% dan suhu 35°C. Sedangkan At2 tidak dapat tumbuh pada media NaCl 2% (Gambar 13) dan suhu 35°C (Gambar 14). Berdasarkan buku identifikasi bakteri patogen bahwa isolat At3 dan At4 diduga termasuk dalam spesies *Agrobacterium tumefaciens*. Menurut Smith and Townsend bahwa bakteri *Agrobacterium tumefaciens* dapat tumbuh pada suhu 0-37°C dengan suhu optimum 25-30°C dan maksimal pada suhu 37°C.



Gambar 13. Koloni bakteri uji At4 pada media biakan NB 2%NaCl yang berubah warna menjadi keruh pada uji pertumbuhan 2% NaCl



Gambar 14. Koloni bakteri uji At4 pada media biakan NB yang berubah warna menjadi keruh pada uji suhu 35°C

#### 4.4 Uji Patogenesitas

Isolat At3 dan At4 kemudian diuji patogenitasnya pada tanaman mawar. Hasil uji patogenesitas yang telah dilakukan pada tanaman mawar menunjukkan bahwa isolat At3 dan At4 mampu membentuk tumor pada batang tanaman mawar (Gambar 15). Gejala tumor tersebut serupa dengan gejala tumor yang diperoleh dari lapangan. Gejala tersebut mulai muncul pada umur 21 hsi. Mehrotra (1978) menyebutkan bahwa patogen yang sama akan dapat menyebabkan gejala yang sama pada inang yang sama. Salah satu syarat postulat Koch adalah patogen dapat ditularkan pada tanaman baru dan menimbulkan gejala yang sama dengan gejala pada patogen asal, sehingga metode ini dapat dijadikan uji untuk mengetahui dan memastikan bahwa patogen yang didapat dari isolasi merupakan patogen penyebabnya.

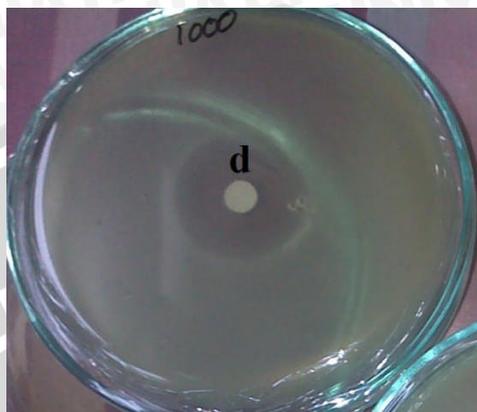


Gambar 15. Koloni bakteri At4 pada uji patogenesitas. Tanda panah menunjukkan gejala tumor pada tanaman mawar

#### 4.5 Uji Antibiotik

Pada perlakuan uji antibiotik, Streptomycin sulfat dan bakterisida Agrept 20 WP yang berbahan aktif streptomycin sulfat 20% (Gambar 16) dapat menghambat pertumbuhan bakteri mulai dari konsentrasi rendah hingga paling tinggi (100 ppm

sampai 1000 ppm). Rata-rata diameter daerah hambatan pada uji antibiotik disajikan pada Tabel 3.



Gambar 16. Pengaruh antibiotika terhadap pertumbuhan *Agrobacterium tumefaciens* ; d adalah daerah hambatan ( Inhibition Zone )

Tabel 3. Rerata garis tengah (diameter) daerah hambatan (cm) pertumbuhan bakteri *Agrobacterium tumefaciens* dalam media NA dengan perlakuan berbagai Konsentrasi Antibiotika \*)

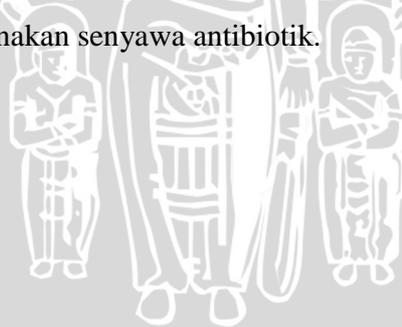
Perlakuan Antibiotik	Rerata Garis Tengah Daerah Hambatan (cm)				
	Pertumbuhan Bakteri				
	Konsentrasi (ppm)				
	100	250	500	750	1000
Streptomycin Sulfat	1,5	2,5	2,5	2,5	3
Bakterisida Agrept 20 WP	1,5	2	2	2	2,5

\*) Pengamatan Dilakukan pada Umur Koloni 24 Jam

Dari tabel 3 dapat dilihat bahwa semakin tinggi konsentrasi antibiotika maka semakin besar daerah hambatan. Pengujian penghambatan bakteri penyebab penyakit terhadap antibiotika streptomycin sulfat yang telah dilakukan secara in vitro, streptomycin sulfat diduga merupakan antibiotik yang efektif dalam pengendalian bakteri *Agrobacterium tumefaciens* maka dengan demikian bakterisida yang berbahan aktif streptomycin sulfat seperti Agrept 20WP dapat digunakan dalam mengendalikan penyakit bengkak bakhota pada tanaman mawar. Dosis anjuran yang tertera pada

Agrept 20WP yaitu 2,5 gram/liter atau setara dengan konsentrasi 50 ppm streptomycin sulfat maka dengan dosis tersebut bakterisida agrept 20WP belum efektif dalam mengendalikan penyakit ini.

Antibiotik umumnya adalah senyawa organik dengan berat molekul rendah yang dikeluarkan oleh mikroorganisme. Pada kadar rendah, antibiotik dapat merusak pertumbuhan atau aktivitas metabolit mikroorganisme lain (Thomashow, 2002). Streptomycin adalah salah satu contoh antibiotik yang berasal dari *Streptomyces*. *Streptomyces* dikenal karena kemampuannya untuk mensintesis senyawa yang dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme lain (Anonymous, 2010b). Agrept 20WP adalah bakterisida sistemik berbahan aktif antibiotik 20% Streptomycin sulfat berkemampuan membunuh bakteri yang karena sifat sistemiknya akan melakukan perusakan dalam tubuh inang. Sistemik artinya adalah senyawa kimia yang bila diaplikasikan pada tanaman akan bertanslokasi ke bagian lain (Anonymous, 2011a). Untuk mengetahui efektivitas antibiotik streptomycin masih perlu diadakan pengujian penghambatan secara *in vivo* pada tanaman mawar yang terserang bakteri tersebut. Pengendalian dengan menggunakan antibiotik merupakan salah satu pengendalian secara biologi hal ini sesuai dengan pernyataan Kado (2002) bahwa pengendalian secara biologi dapat menggunakan senyawa antibiotik.



## BAB V

### KESIMPULAN DAN SARAN

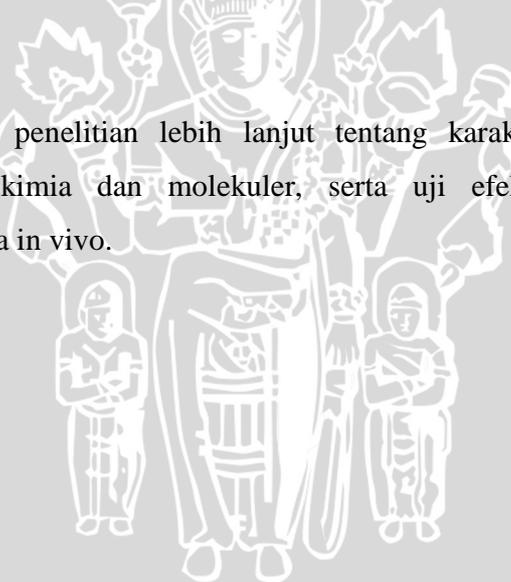
#### 5.1 Kesimpulan

Dari hasil identifikasi didapatkan dua isolat bakteri penyebab penyakit bengkak mahkota pada tanaman mawar. Isolat tersebut diduga termasuk dalam spesies *Agrobacterium tumefaciens* bukan termasuk dalam spesies *Agrobacterium vitis* dan *Agrobacterium rhizogenes*.

Dari hasil pengujian bakteri terhadap antibiotika, semakin tinggi konsentrasi antibiotika maka semakin besar daerah hambatannya. Bakterisida Agrept 20 WP yang berbahan aktif streptomycin sulfat 20% pada konsentrasi 50ppm diduga belum efektif dalam mengendalikan penyakit bengkak mahkota pada tanaman mawar.

#### 5.2 Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang karakter *Agrobacterium tumefaciens* secara biokimia dan molekuler, serta uji efektivitas antibiotika streptomycin sulfat secara in vivo.



## DAFTAR PUSTAKA

- Agrios, G. N. 1988. Plant Pathology Third Edition. Academic Press. 803hal
- Agrios, G. N. 1997. Plant Pathology Fifth Edition. Department of Plant Pathology. University of Florida. Hal. 440 – 444
- Anonymous. 2010a. Mawar. Diakses dari <http://www.google.co.id/mawar.html>.
- Anonymous. 2010b. Diakses dari <http://www.google.co.id/streptomyces.html>.
- Anonymous. 2011a. Diakses dari <http://www.lembahpinus.com>.
- Anonymous. 2011b. Diakses dari [http://karantina-lampung.deptan.go.id/kold/files/optk\\_a2\\_lampung.pdf](http://karantina-lampung.deptan.go.id/kold/files/optk_a2_lampung.pdf).
- Anonymous. 2011c. Diakses dari [http://www.science.oregonstate.edu/bpp/Plant\\_Clinic/images/crowngall.htm](http://www.science.oregonstate.edu/bpp/Plant_Clinic/images/crowngall.htm)
- Badan Karantina Tumbuhan. 2006. *Undang-undang Republik Indonesia No. 16 Tahun 1992 Tentang Karantina Hewan, ikan dan Tumbuhan*. Departemen Pertanian. Jakarta
- Eskobar, Matthew A., Dandekar, Abhaya M. 2003. *Agrobacterium tumefaciens* as an agent of disease. *Trend in plant science*. 8(8). Diakses dari <http://ucce.ucdavis.edu/files/filelibrary/1214/17190.pdf>
- Horst, R.K. 1983. *Compendium of Rose Diseases*. The American Phytopathological Society, St. Paul, Minnesota.
- Kado, C.I. 2002. Crown Gall. The American Phytopathological Society. Diakses dari <http://www.apsnet.org/edcenter/intropp/lessons/prokaryotes/Pages/CrownGall.aspx>
- Mehrotra, R.S. 1978. *Plant Pathology*. Tata McGraw-Hill Publishing Company Limited : New Dehli
- Partridge, J.E. 2008. Crown Gall of Rose. Departement of Plant Pathology. University of Nebraska-Lincoln. Diunduh dari <http://nu-distance.unl.edu/homer/disease/hort/Rose/RoCrnGall.html>
- Rukmana, R. 1994. Mawar. Kanisius : Majalengka. 63 hal.
- Salle, A.J. 1961. *Fundamental Principles of Bacteriology*. Mc Graw, Hill Book Company, Inc. New York. 812 hal.

Schaad, N.W. 1988. Laboratory Guide for Identification of Plant Patogenic Bacteria (2<sup>nd</sup> edition). The American Phytopathological Society. St.Paul. Minnesota. USA. Pl64

Schaad, N.W. 2000. Laboratory Guide for Identification of Plant Patogenic Bacteria (3<sup>rd</sup> edition). The American Phytopathological Society. St.Paul. Minnesota. USA. Hal. 1-35

Smith, E. F dan Townsend, C.O. *Agrobacterium tumefaciens* (Smith and Townsend) Con-Crown Gall of fruits culture. Interactive Agricultural Ecological Atlas of Russia and Neighboring Countries. Economic Plants and their Diseases, Pests and Weeds. Diunduh dari [http://www.agroatlas.ru/en/content/diseases/Pomae/Pomae\\_Agrobacterium\\_tumefaciens/](http://www.agroatlas.ru/en/content/diseases/Pomae/Pomae_Agrobacterium_tumefaciens/)

Thomashow, L. S., Bonsall, R. F., dan Weller, D. M. 2002. Antibiotic production by soil and rhizosphere microbes *in situ*. Pages 638-647 in: Manual of Environmental Microbiology (2nd ed.), ASM Press, Washington DC. Diunduh <http://www.apsnet.org/edcenter/advanced/topics/Pages/BiologicalControl.aspx>

Wibowo, M.S., Milanda, T., Julianti, E. 2006. Transformasi Gen Resistensi Higromisin (*hph*) ke Kapang *Monascus purpureus* Mutan Albino melalui Mediasi *Agrobacterium tumefaciens*. ITB : Bandung

